med 51

Aus der Universitäts-Frauenklinik
Direktor: Prof. Dr. Schubert

---

# Die Wirkung von Rö.-Strahlen auf die freien Nukleotide im Rattenthymus

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Dora Unruh
aus Klein Sommershöfen, Kr. Elchniederung

Hamburg 1961

Aus der Universitäts-Frauenklinik
Direktor: Prof. Dr. Schubert

# Die Wirkung von Rö.-Strahlen auf die freien Nukleotide im Rattenthymus

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Dora Unruh
aus Klein Sommershöfen, Kr. Elchniederung

Hamburg 1961

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

am: 16. 5. 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Dekan: Professor Dr. R. Prévôt

Referent: Professor Dr. G. Schubert

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

## Disposition der Arbeit.


Seite

A. Einleitung: Die Wirkung ionisierender Strahlen und ihr Einfluß auf die Zellteilung, auf die Nukleinsäuren sowie auf den Einbau von Vorstufen in die Nukleinsäuren. 1

B. Methoden: Aufarbeitung des säurelöslichen Extraktes der Thymusdrüse, Säulenchromatographie dieser Fraktion mit Bestimmungsmethoden des Ribose-, Desoxyribose- und Phosphorgehaltes der einzelnen Nukleotide und ihrer spez. Aktivitäten. 9

C. Ergebnisse: Ionenaustauschchromatogramm des säurelöslichen Extraktes des Rattenthymus nach 800 r Ganzkörperbestrahlung mit Auswertung der Konzentrationen und Aktivitäten der einzelnen Nukleotide im Vergleich zu Kontrollserien. 11

D. Diskussion: Gegenüberstellung der Ergebnisse denen anderer Arbeiten unter Berücksichtigung einzelner für den Angriffspunkt der Strahlenwirkung wichtiger Gesichtspunkte. 13

E. Zusammenfassung. 23

Abbildungen und Tabellen. 24

Literaturverzeichnis. 29

Die Wirkung ionisierender Strahlen beruht auf einer Wechselbeziehung zwischen Strahlenenergie einerseits und Atomen und Molekülen der Materie andererseits. Durch Absorption bestimmter "Quanten" entstandene "angeregte" und "ionisierte" Moleküle schaffen die Voraussetzung für chem., biologische und biochemische Umgestaltungen, die in der lebenden Substanz zu allen Graden einer Änderung führen können, angefangen von dem einen Extrem der wohltuend wirkenden Reizung über toxische Schädigungen bis zum anderen Extrem: der völligen Abtötung der Zellen.

Die letale Wirkung der Bestrahlung definierte Hevesy als eine Folge der produzierten Ionisation.(18) Ionisierende Strahlen greifen in den Aufbau des Materials ein, aus dem sich die Chromosomen zusammensetzen. Sie verursachen eine Störung im normalen Prozeß der Zellteilung. Da die Nukleinsäuren an diesem Prozeß beteiligt sind, wurde vermutet, daß Stoffwechseländerungen an den Nukleinsäuren parallellaufend mit den Änderungen der Mitose stattfinden werden.

Die ersten Feststellungen wurden von v. Euler, v. Hevesy und von Holmes gemacht. (12,13,19,23) Sie wiesen mit Hilfe von radioaktivem Natriumphosphat nach, daß sich die Synthese von Desoxyribonukleinsäure bei Behandlung mit Rö.- Strahlen verminderte. Howard und Pelc stellten unter Beweis, daß die verschiedenen Zellen einheitlich auf die ionisierenden Strahlen zu reagieren versuchen. indem die frühe Prophase,- der Zeitpunkt, in dem sich die entwickelnde Zelle den Strahlenwirkungen gegenüber am empfindlichsten erweist,- als "sensible" Phase gilt und die sich teilende Zelle

ihre Aktivität unterbricht. (26) In dieser Phase ist die DNS-Synthese nur eben gesteigert. (20) Nach Beobachtungen an der Vicia- Faba- Wurzel wäre sogar die Synthese der DNS bereits Stunden vor Einsetzen der Mitose vollendet. (26) Eine Anhäufung der Nukleinsäuren im Zellkern neben anderen Produkten wird als Antrieb für die Mitosebildung angesehen, (13) wobei allerdings mit bemerkt werden muß, daß nicht jeder DNS- Synthese stets eine Mitose folgen muß.

Eine Bestrahlung von 150 r - 450 r auf das sensible Vorstadium der DNS- Synthese von regenerierender Leber führte zur Hemmung der Bildung von DNS für mehrere Stunden. (24) Die Synthese wird nicht mehr beeinflußt, wenn sie schon im gange ist, wie es Lajtha an Knochenmarkszellen zeigte. Hierbei wurde der DNS- Aufbau während der Bestrahlung unmittelbar vor der Synthese gestört und blieb während der Synthese unbeeinflußt. (31) Der Zeitpunkt der Strahlensensibilität ist für Mitosehemmung und DNS- Synthese nicht derselbe. Ob die Synthesehemmung mit der strahleninduzierten Hemmung der Zellteilung zusammenfällt, ist noch nicht geklärt, obwohl als Parallele zwischen der mitotischen Figur und dem $P_{32}$-Einbau in die DNS von Organen oft gefunden wurde, daß der $P_{32}$- Einbau in die DNS hauptsächlich während mitotischer Prozesse stattfindet. In Organen, in denen beträchtliche Zellteilungen vorkommen, z. B. Knochenmark, Thymus, Milz, wird das markierte Phosphat schnell durch eine beträchtliche Bildung von DNS verbraucht. In Leber und Nieren bei erwachsenen Tieren ist das nicht der Fall im Gegensatz zu den gleichen Organen bei jungen Tieren. (18)

In der Annahme, daß jede Zelle eine Mitosezelle ist mit unterschiedlicher Zeitdauer der Mitose für die verschiedenen Typen der Zellen, resultiert folglich der Gegensatz in der Empfindlichkeit gegenüber der Behandlung mit Rö.- Strahlen zwischen voll ausgewachsenem und schnell wachsendem Gewebe. Während die nichtteilende Zelle genügend Zeit hat, die Störung zu beseitigen bevor sie zu

einer teilenden Zelle wird, haben Zellen, die in der Mitose oder kurz davor stehen, keine Zeit, um das strahleninduzierte DNS-Defizit auszugleichen. Innerhalb dieser Kerne wird der synthetische Prozeß in einen anomalen Weg hineingeführt. - Eine Regeneration des durch Rö.- Strahlen befallenen Gewebes findet in gewissem Umfang statt; das beweist der Effekt, daß eine verabfolgte Dosis im Verlauf einer langen Zeit weniger wirkungsvoll ist als eine Dosis, die innerhalb einer kurzen Zeit gegeben wird. (18) Die gestörte Synthese normalisiert sich gewisse Zeit nach der Bestrahlung, indem z. B. die Erholung der NS im Knochenmark bei 325 r nach 7 Tagen einsetzt, bei 500 r bzw. 700 r die Normwerte nach 14 und 15 Tagen erreicht werden und nach 21 Tagen die regenerierenden Nukleinsäuren ihre Kontrollwerte überschreiten. (34)

Daß eine einfache DNS- Synthese durch eine noch größere Synthese von DNS gefolgt wäre, erschien unwahrscheinlich, wenn nicht noch andere Faktoren mit einwirken würden. Die Strahlenwirkung auf die Zellteilung spez. die Hemmung der Prophase zum Fortsetzen in die späteren Stadien der Mitose ist vorübergehend. Wie Carlson zeigte, erklärt eine Anhäufung von solchen Zellen in einem Medium, das reich an DNS- Vorläufern ist, das Anwachsen der DNS- Konzentration nach Wegfallen der Hemmung durch die Rö.- Strahlen;- das zur Zeit der gestörten Synthese im Überschuß vorhandene Vorläufermaterial stellt unter diesen Verhältnissen den Antrieb zur gesteigerten DNS- Synthese dar. (6)

Unmittelbar nach der Bestrahlung jedoch ist der Nukleinsäureaufbau noch einer weitgehenden Hemmung unterworfen. Die Wirkung der Rö.- Strahlen auf die Bildung der DNS- Moleküle ist zu diesem Zeitpunkt sogar am stärksten, wie es am Jensen- Sarkom der Ratten gezeigt worden ist. (21) Ähnlich verlaufen die Ergebnisse an Organen wie Leber, Nieren, Milz und intestinaler Mucosa. (22) Die senkende Wirkung der Totalbestrahlung auf die Blutkörperchen und die Reduktion der Bildung von markierter DNS in Tumor, Leber und Knochenmark

**Druckfehlerberichtigungen**

1. Reihe im 2. Abschnitt muß es heißen:

Daß eine einfache Störung der DNS-Synthese durch eine noch größere Synthese von DNS gefolgt wäre, erschien unwahrscheinlich, wenn nicht noch andere Faktoren mit einwirken würden.

steht damit in Einklang. (21)

Nach dem kritischen Stadium - der frühen Prophase - behandelte Zellen vollenden die Teilung allerdings verschiedentlich in gestörter Orientierung. Als einer der ersten, der die strahlenbedingten Entwicklungsstörungen systematisch untersuchte, stellte Perthes an Studien bei Ascaris megalocephala seine Ansicht über Wachstumsstörungen und -anomalitäten auf, die auch heute noch als indirekte Theorie wieder aufgegriffen wird: Vieles deutet darauf hin, daß die chemische Wirkung von Rö.- und Gammastrahlen in der lebenden Zelle das Entstehen von Stoffen veranlaßt, die ihrerseits wieder das Chromatin des Kerns schädigen. (39) Nach Hevesy beruht die Hemmung der Bildung von Nukleinsäuren auf der Inaktivierung von Enzymen, welche die Synthese dieser Verbindungen entwickeln. (21) Inwieweit diese Veränderungen durch gehemmte Bildungen verursacht werden, kann nur durch chem. Analyse geklärt werden. Die Arbeit von Dale über die Wirkung von Rö.- Strahlen auf die Enzymsuspensionen führt zu dem Ergebnis, daß ein Teil der Wirkung der Bestrahlung durch die Produktion von toxischen Stoffen in dieser Lösung verursacht wird. Inaktivierung der Enzyme scheint in weiterer Ausdehnung die Folge der Zwischenreaktion dieser toxischen Produkte zu sein. (9)

Eine Beobachtung, die an das Vorhandensein einer Substanz denken läßt, die eine hemmende Wirkung auf die Nukleinsäurebildung ausübt, zeigten die Versuche von Ahlström u. a., die das Blut von stark bestrahlten Kaninchen in den Kreislauf anderer Kaninchen überführten und die Einbauquote von $P_{32}$ in die DNS der Nieren reduziert fanden. (1) Die indirekte Wirkung genügt, um die Nukleinsäurebildung der Zellen, die sich der Mitose unterziehen, zu hemmen; aber sie beeinflußt nur in kleinem Grad die Zellen, die weiter von diesem Stadium entfernt sind, so, als wäre sie eine nichtletale Dosis im Gegensatz zu einer letalen. - Ebenfalls einen Beweis für die indirekte Strahlenwirkung ergibt der Versuch mit bestrahlten

geschützten und ungeschützten Sarkomen in Ratten, ohne jedoch direkt den Transport schädlicher Produkte zwischen beiden Sarkomen zu bestätigen. Das den Rö.- Strahlen unmittelbar zugängige Sarkom ist bereits weitgehend geschädigt, bevor noch die schädlichen Bestrahlungszwischenprodukte das geschützte Sarkom erreichen. Ebenso steigt auch das Wachstum des geschützten im Verlauf einiger Wochen in einer beträchtlich höheren Rate an als das des ungeschützten; das bedeutet gleichzeitig, daß die indirekte Wirkung vorübergehender ist als die direkte. (18) - Kelly und Hardin Jones dehnten diese Studien aus und fanden, daß lokale Bestrahlung der Leber von Ratten mit einer Dosis von 170 r zur Reduktion (34%) von markierter DNS- Bildung im Tumor führt, während lokale Bestrahlung des Muskels mit 270 r den Einbau markierter Substanzen in die DNS der Leber um 26 % herabsetzte. (29)

Die Ergebnisse wurden vielfach bestätigt, wobei neben der Hemmung der Synthese der DNS auch die der RNS und deren Phosphoreinbau gestört werden. Die Hemmung der oxydativen Phosphorylierung ist nach Payne ein Ausdruck der cytologischen Schädigung. - Mehrmals ist ein unterschiedliches Verhalten zwischen DNS und RNS im Phosphoreinbau beobachtet worden. So beschrieb Payne eine Vermehrung des Phosphoreinbaus in die RNS, dagegen in die DNS der Rattenleber eine Verminderung nach Totalbestrahlung. (37) Derartige Befunde können durch die Vielfalt unterschiedlicher Versuchsbedingungen erklärt werden, z. B. bei den In- vivo- und In- vitro- Versuchen durch die Unfähigkeit des Systems, solche Schäden zu registrieren oder von der unterschiedlichen Radioempfindlichkeit des Gewebes selbst herrühren. Letztlich werden diese Befunde doch nicht gänzlich unberechtigt bleiben durch die Tatsache, daß DNS und RNS heterogen sind hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und Stoffwechselaktivität. (4) Eine Hemmung der oxydativen Phosphorylierung konnte nach Bestrahlung von Mitochondrien erzielt werden. (15) Van Bekkum prüfte die Enzymaktivität der Mitochondrien von Thymus und Milz

und kam zu demselben Ergebnis. (3) Ashwell und Hickmann stellten eine gehemmte Phosphorylierung an Mäusemilz fest. (2)

Im Sinne einer solchen Hemmung wurde die Möglichkeit untersucht, ob säurelösliche Derivate der NS, die entweder als Vorläufer oder Bruchstücke in kleinen Mengen in normalem Gewebe vorhanden sind, einer Wirkung der Rö.- Strahlen unterliegen. - Man neigt dazu, die Schädigung des Gewebes in einer Begrenzung des Wachstums zu sehen, die durch eine gestörte Stoffwechselfunktion hervorgerufen wird. Eine Beeinflussung der Nukleotide ist wahrscheinlich ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung des Gewebsschadens. Dies kann einmal die Folge einer Synthesehemmung der Nukleinsäuren oder eine Störung der Coenzymfunktion sein. Die säurelösliche Fraktion des tierischen Gewebes enthält eine gewisse Menge von freien Nukleotiden, die möglicherweise Zwischenprodukte im Intermediärstoffwechsel darstellen. Es ist bekannt, daß alle Basen, die in polymerisierter Form in den NS vorkommen, in dem säurelöslichen Extrakt des tierischen Gewebes in freier Form existieren, d. h. daß diese Nukleotide als freie Verbindungen vorliegen und nicht Hydrolysate von Nukleinsäuren sind.

Potter und Schlesinger berichteten in Übereinstimmung mit Schneider über das Vorkommen kleiner Mengen von säurelöslichen Desoxyribotiden und Desoxyribosiden in Thymusdrüse und Leber. (45,46,40,42) Harrington und Lawik untersuchten den Einfluß der subletalen Dosis bei einer Ganzkörperbestrahlung hinsichtlich des Einbaus von verschiedenen Vorläufern in die DNS des Thymus von Ratten. (17) Die Wirkung von 100 r verursacht eine 50 %- Reduktion der Einbauquote von $P_{32}$ in die DNS, eine 70 %- Reduktion von Orotsäure- 2- $C_{14}$ in Pyrimidine und eine 48 %- Reduktion von Formiat- $C_{14}$ in Guanin. Bei mit 900 r bestrahlten neugeborenen Mäusen wurde der Einbau von Acetat- $C_{14}$ in die Purine der DNS in einem ähnlichen Ausmaß gesenkt wie der von $P_{32}$ in die DNS. (21) Der Einbau von Adenin- 8- $C_{14}$ in die DNS- Purine war nicht gehemmt. (17) Es wird diskutiert, ob Adenin einen Strahlungs-

effekt in der Synthese zu umgehen vermag, bzw. daß Adenin nicht auf dem direkten Weg der DNS- Purinbildung liegt. Passeneau und Trottler berichteten, daß Bestrahlung von Hühnerembryonen den Einbau von Formiat in die DNS zu 39 % reduzierte, während auch hier der Einbau von Adenin- 8- $C_{14}$ ziemlich unberührt blieb. (38) Wenn man von den mangelnden Kenntnissen hinsichtlich der Wirkung der Bestrahlung auf Veränderungen der Membranpermeabilität und der Zellbevölkerung des untersuchten Gewebes absieht, kann man vermuten, daß der abgeschwächte Einbau von DNS- Vorläufern eine Störung in der Synthese der DNS darstellt.- Eine vorübergehende Hemmung der DNS- Synthese könnte zum Anwachsen der DNS- Vorläufer führen. So stieg der Spiegel des Desoxymaterials in rö.- bestrahlter Kaninchenappendix entsprechend dem Abfallen des DNS- P- Gehaltes. (5) Ähnliche Beobachtungen wurden bei der U-V- Bestrahlung von Escherichia coli gemacht. (28) Mitchell konnte eine Zunahme von u-v- absorbierendem Material in rö.- und gammabestrahltem Tumorgewebe nachweisen. Er betrachtete den Anstau dieser niedermolekularen Vorstufen als Ergebnis der Zerstörung der normalen Stoffwechselfunktion, der entweder durch eine gesteigerte Bildungsrate oder durch einen verminderten Bedarf im Rahmen der folgenden Stoffwechselprozesse hervorgerufen worden war. (35,36)

Andere Versuche wurden durchgeführt, um die Wirkung von Traumen zu untersuchen. Es wurde geprüft, ob die Hemmung der Nukleinsäuresynthese indirekt beispielsweise von der Art abhängig wäre, in der die Tiere während der Bestrahlung befestigt wurden. In Versuchen, in denen zum Unterschied von den Kontrollen nur die tumortragenden Ratten während der Bestrahlung angebunden wurden, schien die hemmende Wirkung der Bestrahlung auf die DNS- Synthese sehr groß zu sein; auch das Aufnahmevermögen in die RNS war etwas reduziert. Die spez. Aktivität der anorganischen Phosphorfraktion war oft niedriger als die der Kontrolle. Unter Ausschaltung solcher Faktoren, bei sonst den gleichen Bedingungen, fand man eine Reduktion der DNS-

Synthese um 50 % im Jensen- Ratten- Carcinom, keine Reduktion der RNS- Phosphoraufnahme. Die spez. Aktivität von dem anorganischen Phosphor war nur sehr wenig herabgesetzt. (25) Das bedeutet, daß Traumen durch den Stress an der Hemmung der Nukleinsäuresynthese beteiligt sind.-

Bei der Hemmung des Einbaus von $P_{32}$ in die Nukleinsäuren konnte gezeigt werden, daß die Rö.- Strahlen Änderungen in den Eigenheiten der DNS- Moleküle hervorrufen (47,50) und gleichzeitig ebenso den Einbau von niedermolekularen Vorstufen stören. Uns kam es darauf an, nachzuweisen, ob die Vorläufer selbst irgendeiner Beeinflussung durch die Rö.- Strahlen unterliegen. Diese Veränderungen bei den freien Nukleotiden könnten durch ihre Bedeutung im Nukleinsäurestoffwechsel, durch ihre Coenzymfunktion und durch ihre Beteiligung an den phosphatübertragenden Reaktionen zu der Vervielfältigung des Strahlenschadens führen.

## Methoden.

Diesem Bericht liegt ein Versuch an 2 Serien von je 15 Ratten zugrunde, der das Verhalten der säurelöslichen Nukleotide bei bestrahlten, in unterschiedlichen Zeitabständen getöteten Tiere darstellt.

Fünf 80 bis 120 g schwere Albinoratten in je einer Gruppe erhielten einzeln in einer Plexiglasröhre eine Totalbestrahlung von 800 r. (200 kv., 20 mA., 0,5 Cu.) Sofort nach der Bestrahlung wurden diese Tiere der einen Serie mit radioaktivem Natriumphosphat intraperitoneal injiziert und 30 Min. später durch Dekapitation getötet. Die Thymusdrüse wurde schnell entfernt, in Aceton- Kohlensäureschnee gefroren und während der ganzen Vorbereitungszeit bis zum Auftragen auf eine Dowexsäule bei $0^{\circ}$ gehalten. In der zweiten Serie wurde den Tieren unter den gleichen Versuchsbedingungen 6 1/2 Std. nach der Bestrahlung $P_{32}$ i. p. injiziert. Die Tötung erfolgte ebenfalls wie bei der Kontrollserie, die 20 Ratten umfaßte, 30 Min. später. Das Thymusgewebe wurde mit dem 2- fachen Volumen 0,6 n Perchlorsäure homogenisiert und dreimal rehomogenisiert mit dem 2- fachen Volumen 0,2 n Perchlorsäure. Alle Extrakte wurden kombiniert und mit 5 n KOH auf $p_H$= 7 gebracht. Das unlösliche $KClO_4$ wurde abzentrifugiert und der Überstand auf die Anionenaustauschsäule (Dowex 1 x 10) gebracht. Die Elution wurde durch graduiertes Anwachsen der Konzentration von Ameisensäure und mit einer Mischung von Ameisensäure und Ammoniumformiat durchgeführt und die Eluate in 3 ccm- Fraktionen gesammelt.

Nach der Trennung der Nukleotide nach der von Cohn (7) entwickelten und von Hurlebert und Schmidt (27) erweiterten Ionenaustauschchromatographie erfolgte ihre Charakterisierung auf der Basis der U-V-Absorptionsspektren, die gegenüber bekannten Proben kontrolliert wurden, auf der Basis ihres Gehaltes an Gesamt- und anorganischem Phosphor, ihres Ribose- und Desoxyribosegehaltes

und ihrer Radioaktivitäten.

Die U-V- Absorptionsspektren wurden mittels des Zeiß- Spektrophotometers erhalten. Die Messung jeder einzelnen Fraktion erfolgte in Quarzcuvetten in einem Wellenbereich für Purine und Pyrimidine zwischen 200 mμ und 300 mμ gegen einen Leerwert von 1/10 n HCl.

Phosphorbestimmungen führten wir nach der Methode von Fiske-Subbarow durch. (14) Aus der org. Verbindung wird der Phosphor erst durch Einwirken von $H_2SO_4$ und Salpetersäure freigesetzt; daran schließt sich die Behandlung an, die der des anorg. Phosphors entspricht, indem durch Zugabe von Molybdänsäure Phosphormolybdat entsteht, das durch Sulfonsäurereagenz reduziert wird und einen blauen Farbkomplex bildet. Die Farbintensität wurde im Eppendorf-photometer bei 578 mμ gegen einen Leerwert abgelesen.

Ribose bestimmten wir nach der Orcinmethode. (22) 1 ccm des Untersuchungsmaterials, versetzt mit 2 ccm Eisenchlorid- Orcin- Reagenz wurden 30 Min. in kochendem Wasserbad gehalten und die Absorption nach dem Abkühlen und Auffüllen der Lösung mit Aqua bidest. auf 10 ccm bei 670mμ im Zeiß- Spektrophotometer gemessen. Bei Anwesenheit von Ribose bildet sich ein grüner Farbkomplex.

Die Desoxyribosebestimmung erfolgte nach der Stumpf- Methode. (49) 0,5 ccm Untersuchungsmaterial und 0, 05 ccm Cysteinlösung (0,1 %) wurden in einem Eisbad mit 5 ccm konz. Schwefelsäure unterschichtet. Nach einem Wasserbad von 20 Min. bei 24° und kurzem Abkühlen wurde die Absorption im Zeiß- Spektrophotometer bei 474 mμ abgelesen.

Die Aktivitäten wurden in einem dünnfenstrigen Beta- Strahlenzählrohr gemessen, indem jede einzelne Fraktion auf ein Aluminiumplättchen gebracht wurde (unter sorgfältiger Beachtung und Ausschaltung der Möglichkeit einer Selbstabsorption). Die Aktivität, umgerechnet auf 1 g Thymusgewebe pro Sekunde, wurde auf die mikromolare Extinktion bezogen.

Für die Extraktion der Nukleotide aus dem Thymusgewebe wurde 0,6 n Perchlorsäure für ausreichend erachtet. Wir konnten nachweisen,

daß weitere Nukleotide im Gewebsrückstand nach einer Extraktion entweder mit 1n, 2n oder 6n Perchlorsäure in keinem Fall zurückgeblieben waren.

## Ergebnisse.

Die säulenchromatische Auftrennung des säurelöslichen Extraktes ergab Befunde, die denen von Potter bei der Kalbsthymus beschriebenen gleichkamen. (40, Abb. 1) Die ungekennzeichneten Gipfel sind nicht identifiziert worden. - Eine quantitative Trennung der Desoxyribose- von den Ribosenukleotiden konnte wegen der geringen Mengen nicht vorgenommen werden; Desoxyribose ließ sich bei den Cytidin- und Thymidinnukleotiden nachweisen, dagegen nicht bei den Purinderivaten und den Uridinnukleotiden. Die übrigen analytischen Ergebnisse liefen mit denen in der Literatur beschriebenen parallel.

Bei sämtlichen Befunden der säulenchromatographischen Trennung konnte nach der Bestrahlung eine Abnahme in der Konzentration als auch im Phosphoreinbau nachgewiesen werden, mit Ausnahme vereinzelter Nukleotide, die Höchstwerte erreichten, die das Doppelte der Norm überstiegen. So fand sich beim TMP und UTP nach 30 Min. eine Aktivität von 270 % bzw. 230 %; CMP zeigte nach 6 1/2 Std. einen gesteigerten Phosphoreinbau um 50 % der Norm. - Tabelle 1 und 2 zeigen die Konzentrationen und Aktivitäten zu den verschiedenen Zeitintervallen; Abb. 2 veranschaulicht die Konzentrationen und Aktivitäten in Prozent der Kontrolle. Es kann daraus gesehen werden, daß sich der Phosphorumsatz bei einzelnen Nukleotiden schon ziemlich stark während der ersten halben Stunde ändert; beim ATP betrug er 24 %, beim TTP 58 %. Die Aktivität der Diphosphate, außer UDP, änderte sich zu keiner Zeit; ebenso verhielten sich die Monophosphate von Guanosin und Uridin. Auch Cytidin behielt nach einer

halben Stunde seinen Wert noch bei.

Nach 6 1/2 Std. war der Phosphorumsatz bes. bei den Triphosphaten stark gesunken. Beim ATP, GTP und CTP betrug er, - bei unveränderten Werten nach einer halben Stunde, - 23 %, 30 % bzw. 33 %. UTP war von seinem gesteigerten Einbau auf 70 % herabgesunken. TTP fiel weiter auf 58 % ab. Der Abfall des UTP auf 44 % war die einzigste Aktivitätsänderung bei den Diphosphaten. Bei den Monophosphaten war allein die Aktivität von ATP vermindert (13%); TMP hatte sich wieder normalisiert.

Eine Abnahme der Extinktionen im gesamtsäurelöslichen Extrakt konnte erst nach 6 1/2 Std. verzeichnet werden.

Die Konzentration der Nukleotide war während der ersten halben Stunde stärker gesunken als ihre Aktivitäten, und niedrige Konzentrationen blieben ebenfalls bei allen Triphosphaten nach 6 1/2 Std. übrig. Den stärksten Abfall zeigte GTP; gleich nach 1/2 Std. fiel es auf 25 % und hielt auch bis zum Ende des Versuches diesen Wert bei. Auch der Gehalt von TTP war nach 6 1/2 Std. auf 25 % gesunken; nach 1/2 Std. war er auf 55 % herabgesetzt. ATP, CTP und UTP lagen mit ihren Werten nach 6 1/2 Std. etwas höher: ATP betrug 34 %, CTP 56 % und UTP 30 %; sie zeigten allerdings nach 1/2 Std. noch keine Änderung an.- Erheblich vermindert hatte sich die Konzentration des DPN mit 50 % bzw. 30 %. Die anderen Diphosphate, außer ADP, das auf 70 % bzw. 24 % sank, änderten ihre Konzentrationen zu keiner Zeit. - Ebenfalls blieben die Monophosphate von Cytidin, Uridin und Thymidin unverändert; AMP war dagegen bei gleichbleibendem Gehalt in der ersten halben Stunde auf 60 % nach 6 1/2 Std. abgesunken, und CMP hat seinen Normwert nach vorübergehendem Sinken bei 30 Min. auf 60 % am Ende des Versuches wieder erreicht. - Eine ansteigende Konzentration wies allein $UDI_x$ in der ersten halben Stunde mit 110 % auf. Der Wert normalisierte sich nach 1/2 Std.

Sämtliche Unterschiede wurden erst nach Sicherung der Ergebnisse durch den T- Test gelten gelassen.

## Diskussion.

Der ursächliche Zusammenhang zwischen Rö.- Strahlen und Zellschädigung ist bis jetzt noch nicht geklärt. Es ist möglich, daß die Wirkung der Bestrahlung eine relativ spezifische ist, die sich auf fermentative Schlüsselreaktionen erstreckt und den physiologischen Stoffwechsel, der auf der Basis eines normalen Ferment- Substrat- Systems beruht, in Unordnung bringt. Die Annahme, daß sogenannte "Fermentblocks" eine Bedeutung in der Auswirkung der Rö.- Strahlen auf lebendes Gewebe besitzen, wurde gestützt durch den Nachweis, daß unter Rö.- Strahlenwirkung gestörte Stoffwechselreaktionen durch Substitution von Cofermenten vermieden werden konnten. (9)

Alle Nukleotide der verschiedenen Purin- und Pyrimidinbasen erfüllen als Cofermente wichtige Funktionen im Intermediärstoffwechsel. Die engen Beziehungen zwischen den einzelnen Stoffwechselsystemen und die gegenseitige Abhängigkeit gleichzeitig ablaufender Reaktionen machen es möglich, daß Fehlsteuerungen des eines Systems zu korrespondierenden Störungen im anderen führen. Stoffwechseländerungen der Nukleotide, wie sie durch Rö.- Strahlen hervorgerufen werden, führen durch ihre Doppelrolle in gleichgeordneter Funktion als Vorläufer der NS und Coenzyme in Erweiterung des fehlgesteuerten Ablaufes des Stoffwechsels zu einer Schädigung des lebenden Gewebes.-

Wenn vorausgegangene Arbeiten die Hemmung der NS- Synthese durch die Einwirkung von Rö.- Strahlen aufwiesen, so wurde in unseren Darstellungen versucht, die Abhängigkeit der Vorläufer der Nukleinsäuren von Rö.- Strahlen aufzuzeigen sowie das Abhängigkeitsverhältnis der Nukleotide untereinander zu klären.

Eine Hemmung der Synthese läßt zwangsläufig an eine Anhäufung der Vorstufen denken. Kanazir und Errera fanden einen vermehrten Gehalt von Pentosen, Purinen und Pyrimidinen und von anorganischem

säurelöslichen Phosphor enthaltenden Bestandteilen nach der U-V- Bestrahlung auf eine Kultur von E. coli- Bakterien. (28) Die Hemmung der Synthese fand zeitlich parallellaufend mit dem Anstau des Vorläufermaterials statt. Die Resynthese wurde nach einiger Zeit, die der der Bestrahlung gleichkam, wieder aufgenommen. Ebenso änderte sich rö.- und gammabestrahltes Tumorgewebe, bei dem ein Anwachsen des säurelöslichen u-v- absorbierenden Materials verzeichnet werden konnte. Eine weitere Charakterisierung der Substanzen erfolgte nicht. (35,36) - Das Desoxymaterial in der Kaninchenappendix und der Thymusdrüse folgt im allgemeinen dem Muster, daß das Vorläufermaterial steigt entsprechend dem Abfallen der DNS- P- Konzentration mit der Einschränkung allerdings, daß in dem Thymus die DNS- P- Konzentration bei einem leichten Ansteigen (nach 4 Stunden) fast konstant blieb. Die Kaninchen wurden einer Ganzkörperbestrahlung von 1000 r ausgesetzt und die DNS- P- Konzentration und RNS- Konzentration ebenso wie die Konzentration von säurelöslichen Desoxyribosiden und Desoxyribotiden in Abständen von 1, 4, 8 und 24 Stunden bestimmt. (5)

Man schloß daraus, daß die frühen Stoffwechselschritte in der Synthese der Nukleinsäuren bis zu den Nukleotiden von der Strahlenwirkung unberührt blieben.

Obwohl die Annahme eines präsynthetischen Anstaus bei der Hemmung der NS- Synthese ihre Bestätigung fand, schließen auch gegenteilige Ergebnisse ihre Richtigkeit nicht aus. Intermediär werden wahrscheinlich sehr labile Phosphorverbindungen gebildet, die durch Abgabe des Phosphatrestes andere Stoffe reaktionsfähig machen, indem die phosphorylierten Verbindungen zu synthetischen Reaktionen befähigt sind. Das Phosphat wird gegen andere Reste ausgetauscht und als anorganisches Phosphat abgespalten. Das Fehlen der Kenntnis solcher Intermediärprodukte stellt eine große Schwierigkeit dar; sie bilden eine Übergangsform von $P_{32}$ in organischen Verbindungen und sind wegen der schnellen Reaktions-

zeit während ihrer Umformung nicht erfaßbar. Damit verbunden ließe sich das Fehlen des Anwachsens in der Konzentration der meisten Fraktionen in unseren Versuchen erklären, die gleich zu weiteren Produkten abgebaut werden unter Abspaltung von anorg. Phosphat, das verschiedentlich erhöht gefunden werden konnte.

Auf dieser Ebene, die eben kein Anwachsen der Vorstufen erfordert, liegen auch die Ergebnisse von Lutwak-Mann, Denson, Mandel u.a., die den Gehalt der Vorläufer - von z. B. ATP und anderen einzelnen Nukleotiden - zu verschiedenen Zeitintervallen nach dem Aussetzen untersuchten und ein Absinken der ATP- Konzentration nach 3 Std. im Knochenmark bei Kaninchen bzw. in der Rattenleber reduzierte Konzentrationen nach 2 - 3 Tagen fanden, ebenso in Ratten- und Mäusemilz und Rattenhaut. (32,11,50,33)

Ein Ansteigen des anorg. Phosphors bei gleichzeitiger Abnahme der energiereichen Nukleotide fand Cooper in seinen Versuchen im Gehirn von Ratten während eines Krampfanfalles. Die Krämpfe wurden durch Krampfgifte (Mintacol, Scillirosid und Cardiazol) ausgelöst. (8)

Der intrazelluläre anorg. Phosphor gilt als adäquater Vorläufer vom NS- Phosphor und wird durch Enzyme, die sich innerhalb des Zellsaftes befinden, in die Nukleinsäuren übertragen. Die Enzyme, die die Erneuerung des Phosphors in die DNS katalysieren, unterscheiden sich dabei noch von denen, die für den Ersatz des RNS-Phosphors verantwortlich sind.-

Die größte biochemische Wirkung scheint innerhalb eines vollständigen Enzymsystems zu liegen, von dem eins oder mehrere dieser Enzyme in dem Bestrahlungssyndrom verwickelt sind. Die Ausdehnung des Strahlenschadens selbst ist abhängig von der Reichweite der Funktion, die der geschädigte Teil innerhalb eines Enzymsystems einnimmt bzw. von dem Grad, inwieweit die übrigbleibenden Komponenten den Ausfall zu kompensieren vermögen, indem sie ihren eigenen Anforderungen untereinander entgegenkommen.

Die Beeinträchtigung des Phosphorylierungssystems gilt als ein wesentliches Moment im Bereich des Strahlenschadens, wird doch das Phosphorylierungssystem als einzigstes angesehen, das radiosensibles Gewebe von nicht empfindlichen zu trennen vermag. Die phosphorylierten Produkte stellen eine wichtige Rolle im Intermediärstoffwechsel dar, da durch die Einführung von Phosphatresten organische Verbindungen reaktionsfähig gemacht werden und gewisse organische Verbindungen als Bindeglied zwischen energieliefernden Abbaureaktionen und energieverbrauchenden Prozessen liegen.

Unter dem Gesichtspunkt der Wechselbeziehung ihrer Funktion, einmal in ihrer Stellung innerhalb eines Enzymsystems mit ihrer Beziehung zum Intermediärstoffwechsel als auch in ihrer Position als Vorläufer der Nukleinsäuren seien die Einzelbefunde der Nukleotide hinsichtlich ihrer Beeinflussung durch Rö.- Strahlen betrachtet.

Das Adenosintriphosphat, das weitgehend auf den Stoffwechsel des ganzen Individuums einwirkt, ist in dem Gesamtschaden, der von dem Organismus erlitten wird, entsprechend verwickelt. Es liefert die Phosphatgruppen für die meisten Phosphorylierungsvorgänge im Intermediärstoffwechsel. Bei Gegenwart von bestimmten Fermenten (Myokinase, GTP- ATP- Kinase, Nukleosid- Diphosphat- Kinase u.a.) wird der terminale Phosphatrest zwischen den verschiedenen Polyphosphaten verschoben. In Anwesenheit von Myokinase reagiert ATP mit der Adenylsäure unter Bildung von Diphosphat, das auf dem Weg über die oxydative Phosphorylierung und die Substratphosphorylierung wieder ATP liefert. Die GTP- ATP- Kinase überträgt den Phosphatrest von GTP auf ADP. Das Phosphat zwischen den Polyphosphaten des Uridins, Inosins und Adenosins wird durch die Nukleosid- Diphosphat- Kinase übertragen. Darüber hinaus ist das ATP bei vielen wichtigen Synthesevorgängen beteiligt, wie bei der Eiweiß- und Fettsynthese und im intermediären Kohlenhydratstoffwechsel. Die zentrale Stellung, die das ATP im gesamten Intermediärstoffwechsel einnimmt mit seiner Fähigkeit, andere Stoffe zu phosphorylieren, drückt sich in unseren Versuchen als irreparable Schädigung eines wesentlichen Coenzyms

bei seinem eigenen starken Abfall in der Konzentration wie in der Aktivität auch in den meisten Konzentrations- und Aktivitätsänderungen vieler anderer Nukleotide aus.

Bei gleichbleibender Aktivität und abfallender Konzentration des ADP erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß die Bestrahlung die Phosphorylierung von AMP zu ATP hemmt. - Die Verhältnisse bei der Bildung von ATP aus AMP liegen so, daß immer nur das ADP das anorg. Phosphat aufnimmt. - Diese Erklärung erscheint jedoch hypothetisch, vorwiegend wegen des stärkeren Abfalles des AMP. bes. in der Aktivität.

Entkoppelung der oxydativen Phosphorylierung führt unter Spaltung von Phosphorsäureverbindungen, die die Synthese überwiegt, zum Anwachsen des anorg. Phosphats und des DPN. Innerhalb der "Substratkette", in der ein bestimmter Reaktionszyklus durchlaufen wird, vermag die Zelle durch denselben Reaktionsmechanismus verschiedenartige Substrate in ihrer chem. Energie auszunutzen; im Mittelpunkt der Zwischenreaktionen stehen oft die gleichen Cofermente, meistens DPN und TPN in Funktion mit spez. Dehydrasen. In Parallele zu den Entkoppelungsvorgängen der oxydativen Phosphorylierung bei Sauerstoffentzug steht die Wirkung der energiereichen Strahlen in der Strahlenempfindlichkeit der Phosphorylierungsvorgänge, die allerdings in unseren Versuchen in diesem spez. Fall in der DPN kein Anwachsen der Aktivität, in der Konzentration sogar einen Abfall erkennen läßt.

Einen stärkeren Abfall in der Konzentration als auch in seiner Aktivität zeigt TTP, wogegen sich bei TMP bei gleichbleibender Konzentration ein Anwachsen im Phosphoreinbau fand. Kornberg et al. stellten in ihren Versuchen heraus, daß TTP als direktes Glied in der Kette der DNS anzusehen ist. (30) Ihnen gelang die enzymatische Darstellung von $C_{14}$ - Thymidin in Gegenwart von ATP zu einem "Thymdinpolimerisationsprodukt" mit den Eigenheiten von DNS: alkalistabil, säureunlöslich, zerstörbar durch DN- ase, resistent gegenüber RN- ase. Die Identifizierung des TTP gelang

mit Hilfe des Anionenaustauschchromatogramms. Die $P_{32}$- gekennzeichneten Desoxynukleotide wurden durch enzymatischen Abbau von E. coli- DNS erhalten, die auf $P_{32}$- haltigem Medium wuchsen und weiter enzymatisch phosphoryliert wurden. - Aus unseren Versuchen ist wohl eine Hemmung in der Umwandlung von TMP zu TTP ersichtlich, die sicher nicht ohne Einfluß auf die DNS- Synthese bleiben wird. Doch diese Wirkung hinsichtlich der Bedeutung des TTP in der Polymerisation zu DNS darf nicht überschätzt werden, da in der Vielfalt der Desoxyverbindungen ein einzelner Schritt in der Synthese der DNS nicht von allein ausschlaggebendem Wert sein wird.

Die Blockade in der Umwandlung von TMP zu TTP soll auch für die nächsten Befunde der Uridinphosphate als Grundlage der Betrachtung dienen. Auffallend ist besonders die Änderung des Uridintriphosphates mit seinem starken Anwachsen in der Aktivität. Friedkin, Roberts u.a. haben nachgewiesen, daß Uracil- und Cytidindesoxyriboside in die Thymidine der DNS umgewandelt sind. (16,13) Wenn nun TTP auf dem direkten Weg der DNS- Synthese liegt, erscheint es verständlich, daß eine Hemmung von TMP zu TTP bei einer Reduktion der DNS- Synthese auch rückwirkend auf die Uridinphosphate wirken kann und im Sinne eines präsynthetischen Anstaus ein Anwachsen erzeugt, wie es sich beim Uridintriphosphat bemerkbar macht. Nach den vorher erwähnten Versuchen waren auch die Monophosphate von Cytidin und Uridin ebenso wie das Triphosphat von Cytidin erhöht. In unseren Versuchen zeigt allein das Cytidinmonophosphat ein Anwachsen um die Hälfte seiner Norm. Wie der Zusammenhang hier und überhaupt zwischen den einzelnen Phosphaten des Cytidins und Uridins liegt, ist vorläufig noch nicht zu übersehen. Es bleibt eben dabei, daß die Hemmung der DNS- Synthese durch eine Schädigung des Fonds der Nukleotide ausgelöst wird, deren Verwicklung untereinander viele andere Verbindungen in den Strahlenschaden hineinzuziehen vermag und zu dem endgültig verdichtenden Fortschreiten der Strahlenwirkung führt.

Auch die Veränderungen von Guanosin lassen eine Erklärung, deren Schwierigkeit hier wie in den vorhergehenden Fällen in der Verwicklung der Verbindungen untereinander liegt, vorläufig noch offen.

Bei den Ergebnissen der Purin- und Pyrimidinderivate kommt das Abfallen der Konzentration verschiedener Purine bei gleichbleibendem Phosphoreinbau einer Erklärung nahe, die Shermann und Almeida von Bedeutung für ihre Befunde ansahen. Sie führten den gesteigerten Einbau von $P_{32}$ in die RNS- Mononukleotide 30 Min. p. r. auf eine Verminderung verwertbarer Vorstufen zurück. (44) - Way et al. teilten in ihren Versuchen über Rö.- Strahlenwirkung auf den Einbau von Adenin- &- $C_{14}$ in Nukleinsäuren mit, daß sie eine leichte Erhöhung der Leber- RNS- Purine bei normalen und tumortragenden Mäusen vermerken konnten. -

In den vorwiegendsten Fällen ist die endgültige Bedeutung der Befunde nach dem heutigen Stand der Forschung, zu der die Einwirkung der Rö.- Strahlen auf die DNS erst den Anlaß gab, noch nicht richtig einzuschätzen. Die Beeinflussung des DNS- Stoffwechsels gilt als eine der frühesten beschriebenen Folgen der ionisierenden Strahlen und wurde wiederholt durch das reduzierte Aufnahmevermögen der Vorläufer in die DNS bestätigt.

Bei der allgemeinbeschriebenen Hemmung des Phosphoreinbaus in die Nukleinsäuren und dem verschiedentlich beobachteten Sinken des ATP- Gehaltes und der Spiegel anderer Nukleotide, wie es sich auch in unseren Versuchen bei den säurelöslichen Nukleotiden mit nur einzelnen Ausnahmen zeigt, war man bemüht, eine Beziehung herzustellen zwischen der reduzierten Kapazität eines wesentlichen Faktors in der Vorläuferreihe der Nukleinsauren und der reduzierten Fähigkeit, synthetische Prozesse auszuführen. Dieses Bemühen äußerte sich in der Vorstellung von der Existenz eines Systems, das mit der NS- Synthese wohl verbunden, aber nicht identisch wäre, doch radiosensibler sein müßte als der Prozeß der Synthese der

Nukleinsäuren. Das Bestrahlungssyndrom ließ sein Hauptmoment in den Schäden der Zellteilung erscheinen mit der konsequenten Reduktion der Phosphorylierung. Es ist bekannt, daß die Phosphorylierung in einer begrenzten Zeit während der Zellteilung vor sich geht und die gesteigerte Radiosensibilität dieser Phase erblickt man in Zusammenhang damit. Da man die Phosphorylierung der niedermolekularen Substanzen als einen der ersten Schritte in der Nukleinsäuresynthese ansieht, vermutet man,- in Übereinstimmung mit der strahlensensiblen Phase der Zellteilung,- hier den Angriffspunkt der Rö.- Strahlen. Wichtig für die Reaktion ist vor allem die Schädigung eines wesentlichen Nukleotids, das zu den hochenergiereichen Phosphaten zählt und für die oxydative Phosphorylierung ebenso wie für die Synthese der Nukleinsäuren von großer Bedeutung ist.

Veränderungen am Nukleinsäuremolekül selbst können als eine direkte Wirkung der Rö.- Strahlen betrachtet werden, da für eine blockierende Wirkung während der synthetischen Phase sehr hohe Dosen erforderlich sind, während in der präsynthetischen Phase die Hemmung schon durch niedrige Dosen gelingt. (45) - Sei nun auch schließlich die Zerstörung der oxydativen Phosphorylierung eine primäre oder sekundäre Folge, mithin also schon die Beeinflussung in einem bereits geschädigten System.- es läuft letztlich darauf hinaus, daß die Strahlenwirkung mit ihrem Angriffspunkt in dem Pool der Nukleotide durch eine Störung in den verschiedenen Zwischenreaktionen zu einer langsam sich entwickelnden Läsion der Zelle führt, die in dem Zelltod resultiert, wenn nicht die Aufrechterhaltung der Funktion durch Kompensation vom Kern selbst oder vom Cytoplasma gewährleistet werden kann. -

Die Deutung der Strahlenbiologie richtete sich in den letzten Jahren vornehmlich nach der Hypothese der indirekten Wirkung; die der direkten Wirkung dagegen wurde weitgehend von den früheren Zeiten vertreten. Da keine dieser Hypothesen einwandfrei mit Tat-

sachen belegt sind, wird ihnen lediglich als solche nebeneinander ihre Berechtigung gelassen. -

In der Zelle spez. dem Zellkern spielt sich das Hauptgeschehen ionisierender Strahlen ab. Es ist durchaus möglich, daß eine direkte Wirkung der Bestrahlung auf die Zellteilung stattfindet, obwohl auch die Wahrscheinlichkeit eines solchen Ausganges immerhin beschränkt ist; beträgt doch die Chance eines Atoms, ionisiert zu werden, nur den minimalsten Bruchteil der angewandten Dosis, z. B. nach Hevesy bei einer Dosis von 1000 r bis zu $10^{-8}$. (18) Wenn wir die indirekte Wirkung der Bestrahlung betrachten, ist zunächst die Wirkung der Teilchen, die in der Gewebsflüssigkeit gebildet werden, von großer Bedeutung, weil ihre Zahl wesentlich höher liegt als die, die in anderen Gewebsbestandteilen produziert werden. In der Gewebsflüssigkeit geht der radiochemisch erste Prozeß vor sich in der Bildung von ionisierten Molekülen, die in die sensiblen Teile der Zelle hineindiffundieren und in Reaktion mit den verschiedenen Verbindungen treten. Dadurch entstandene "Bestrahlungszwischenprodukte" stehen am Anfang der strahlenbiologischen Wirkungskette, und die durch sie gebildeten Veränderungen führen fortschreitend zu der Desorganisation der Zelle.

Weil die Nukleinsäuren - als Hauptbestandteile der Zellkerne - auch an der Zellteilung beteiligt sind, sieht man in ihrer Änderung die durch ihre Zwischenreaktion mit den ionisierten Molekülen entsteht, einen Zusammenhang mit der blockierenden Wirkung ionisierender Strahlen auf die Zellteilung als auch mit der Bildung anomaler Mitoseprodukte unter Einwirkung von Rö.- Strahlen. Damit in Verbindung wird jetzt erneut die Synthese vom Nukleinsäurehungertod von Darlington in den Vordergrund gerückt, die besagt, daß sich die Chromosomen in ihrem Gehalt und ihrem Erscheinungsbild ändern entsprechend der vorhandenen Nukleinsäuremenge.

Daß solche Bestrahlungszwischenprodukte nicht von Dauer zu

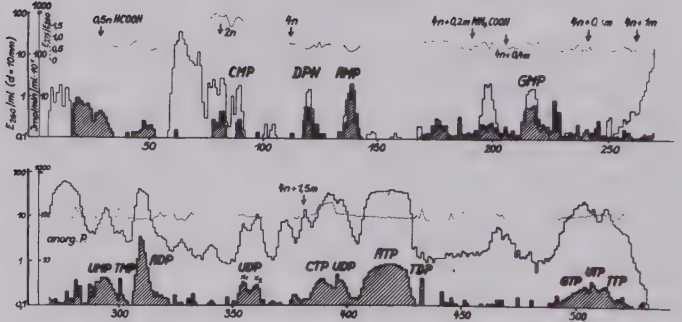
sein brauchen, bedeuten die regenerierenden Prozesse, die im Gewebe nach Rö.- Bestrahlung vor sich gehen.

Abschließend sei noch auf den Unterschied zwischen Rö.- Strahlen und chem. Mitteln hingewiesen, die durch Injektion in den Kreislauf verabfolgt werden können und eine Wirkung der Rö.- Strahlen nachzuahmen vermögen. Solche Mittel erreichen schnell den extrazellulären Raum. Sie werden von der Zelle durch die reduzierend wirkende Grenzphase getrennt. Diese stellt einen wirksamen Schutz gegenüber schädlichen Mitteln dar, indem sie für manche Produkte nicht oder nur in geringem Maße passierbar ist. Rö.- Strahlen ignorieren diese schützende Grenze, da sie solche Produkte zum Anwachsen innerhalb der Zelle induzieren. Daraus erklärt sich die wohltuende Wirkung ionisierender Strahlen in der Therapie als auch ihre - wie schon anfangs erwähnte - zerstörende bei unkontrollierter Anwendung.

## Zusammenfassung.

Wir untersuchten die Rö.- Strahlenwirkung auf die säurelöslichen Nukleotide in dem Thymusgewebe von Ratten, die eine Ganzkörperbestrahlung von 800 r erhielten und 30 Min. bzw. 6 1/2 Std. p. r. getötet wurden. Die Nukleotide wurden mit Hilfe der Anionenaustauschchromatographie getrennt und auf der Basis der U-V- Absorptionsspektren als auch auf der Basis ihres Phosphorgehaltes und der Farbreaktionen für Ribose und Desoxyribose bestimmt. Die spez. Aktivität der Nukleotide war nach i. p.-Injektion von $P_{32}$ ebenso wie ihre Konzentration - mit nur einzelnen Ausnahmen, deren Höchstwerte das Doppelte der Norm überschritten, - schon nach einer halben Stunde stark gesunken; niedrige Werte wiesen vor allem nach 6 1/2 Std. die Triphosphate auf. Die Ergebnisse wurden denen einer Kontrollserie, deren Tiere unbestrahlt geblieben waren, gegenübergestellt. - Die Kriterien wurden besprochen und ihre Bedeutung für die Wirkung ionisierender Strahlen herausgestellt.

Meinen herzlichsten Dank darf ich Herrn Professor Dr. Schubert für die freundliche Überlassung des Themas aussprechen sowie Herrn Dr. Bettendorf für die Anleitung und Unterstützung bei dem experimentellen und schriftlichen Teil der Arbeit.




Jonenaustausch-Chromatogramm des säurelöslichen Extraktes aus Rattenthymus (2,7g)
Dowex 1× 10, Säule 1,2 × 64 cm, Mischgefäß 250 ml, Vol. d. Fraktionen 3 ml. Durchlauf 5 Fraktionen/Stunde.

Abb. 2

Die freien Nukleotide im Rattenthymus
0,5 und 6 1/2 Std. nach Ganzkörperbestrahlung.

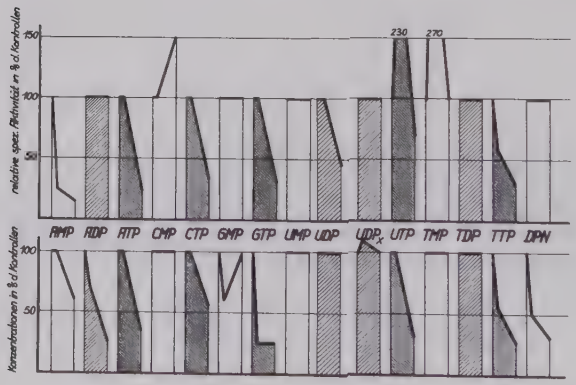


Tabelle 1



Konzentration der freien Nukleotide im Rattenthymus

($\mu$Mol/1g Frischgewicht; unbestrahlt ($M_1$), 30 Min. ($M_2$) und 7 Std. ($M_3$) nach 800 r Ganzkörperbestrahlung)

| Nukleotid | $M_1$ | $\sigma_1$ | $M_2$ | $\sigma_2$ | $M_3$ | $\sigma_3$ | $p_{(1:2)}$ | $p_{(2:3)}$ | $p_{(1:3)}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AMP | 0,79 | 0,10 | 0,72 | 0,17 | 0,50 | 0,14 | - | - | 0,1 |
| ADP | 1,01 | 0,04 | 0,70 | 0,20 | 0,24 | 0,02 | 0,1 | 0,05 | - |
| ATP | 0,91 | 0,18 | 0,70 | 0,17 | 0,31 | 0,12 | - | - | 0,05 |
| CMP | 0,18 | 0,03 | 0,10 | 0,02 | 0,10 | 0,008 | - | - | - |
| CTP | 0,53 | 0,07 | 0,41 | 0,06 | 0,31 | 0,01 | - | - | 0,05 |
| GMP | 0,27 | 0,04 | 0,16 | 0,04 | 0,28 | 0,04 | 0,1 | 0,1 | - |
| GTP | 0,40 | 0,04 | 0,09 | 0,02 | 0,10 | 0,05 | 0,01 | - | 0,01 |
| UMP | 0,58 | 0,12 | 0,50 | 0,03 | 0,50 | 0,08 | - | - | - |
| UDP | 0,48 | 0,15 | 0,32 | 0,02 | 0,20 | 0,02 | - | - | - |
| UDP-$x_1$ | 0,19 | 0,11 | 0,22 | 0,01 | 0,23 | 0,04 | 0,1 | - | - |
| UDP-$x_2$ | 0,18 | 0,02 | 0,19 | 0,06 | 0,18 | 0,03 | - | - | - |
| UTP | 0,32 | 0,10 | 0,17 | 0,14 | 0,09 | 0,003 | - | - | 0,1 |
| TMP | 0,10 | 0,02 | 0,08 | 0,05 | 0,14 | 0,11 | - | - | - |
| TDP | 0,18 | 0,05 | 0,14 | 0,13 | 0,12 | 0,04 | - | - | - |
| TTP | 0,39 | 0,08 | 0,22 | 0,04 | 0,10 | 0,05 | 0,1 | 0,02 | 0,05 |
| DPN | 0,06 | 0,02 | 0,03 | 0,017 | 0,019 | 0,09 | 0,1 | 0,05 | - |
| Gesamtextrakt in Extinktionseinheiten | 62 | 9 | 51 | 14 | 19 | 3 | - | 0,05 | 0,01 |

Tabelle 1a.



Konzentration der freien Nukleotide in Prozent der Kontrollen 30 Min. und 6 1/2 Stunden nach 800 r.

| Nukleotid | ø | nach 30 Min. | nach 6 1/2 Std. |
|---|---|---|---|
| AMP | 100 | 100 | 60 |
| ADP | 100 | 70 | 24 |
| ATP | 100 | 100 | 34 |
| CMP | 100 | 100 | 100 |
| CTP | 100 | 100 | 56 |
| GMP | 100 | 60 | 100 |
| GTP | 100 | 25 | 25 |
| UMP | 100 | 100 | 100 |
| UDP | 100 | 100 | 100 |
| UDP-$x_1$ | 100 | 110 | 100 |
| UDP-$x_2$ | 100 | 100 | 100 |
| UTP | 100 | 100 | 30 |
| TMP | 100 | 100 | 100 |
| TDP | 100 | 100 | 100 |
| TTP | 100 | 55 | 25 |
| DPN | 100 | 50 | 30 |

Tabelle 2



$P_{32}$- Altivität der freien Nukleotide im Rattenthymus

(Aktivität/$\mu$ Mol/injizierte Aktivität $10^{-6}$)
M1 unbestrahlt; $M_2$ 30 Min.; $M_3$ 7 Std. nach 800 r Ganzkörperbestrahlung.

| Nukleotid | $M_1$ | $\sigma_1$ | $M_2$ | $\sigma_2$ | $M_3$ | $\sigma_3$ | $p_{(1:2)}$ | $p_{(2:3)}$ | $p_{(1:3)}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AMP | 2,95 | 1,53 | 0,71 | 0,07 | 0,39 | 0,04 | 0,1 | 0,01 | 0,1 |
| ADP | 10,44 | 3,70 | 11,00 | 5,3 | 10,10 | 6,3 | - | - | - |
| ATP | 24,38 | 7,6 | 19,92 | 9,56 | 5,72 | 1,29 | - | 0,1 | 0,05 |
| CMP | 0,71 | 0,04 | 0,86 | 0,23 | 1,13 | 0,02 | - | - | 0,001 |
| CTP | 15,04 | 5,17 | 10,23 | 7,2 | 4,89 | 0,29 | - | - | 0,1 |
| GMP | 0,52 | 0,38 | 0,43 | 0,0 | 0,41 | 0,07 | - | - | - |
| GTP | 11.14 | 3,86 | 15,98 | 9,37 | 3,63 | 1,17 | - | - | 0,1 |
| UMP | 3,84 | 0,89 | 5,86 | 2,81 | 5,55 | 2,06 | - | - | - |
| UDP | 1,0 | 0,61 | 0,97 | 0,15 | 0,44 | 0,15 | - | 0,05 | - |
| UDP-$x_1$ | 3,09 | 0,87 | 3,57 | 1,97 | 3,35 | 2,30 | - | - | - |
| UDP-$x_2$ | 4,39 | 0,24 | 6,14 | 2,18 | 3,99 | 3,41 | - | - | - |
| UTP | 7,30 | 0,84 | 18,23 | 2,88 | 3,54 | 1,12 | 0,01 | 0,01 | 0,02 |
| TMP | 2,18 | 0,29 | 6,69 | 3,11 | 4,10 | 2,63 | 0,1 | - | - |
| TDP | 0,85 | 0,18 | 3,0 | 4,0 | 1,99 | 1,54 | - | - | - |
| TTP | 10,0 | 1,0 | 5,85 | 2,05 | 3,09 | 1,74 | 0,05 | - | 0,05 |
| DPN | 0,65 | 0,14 | 0,65 | 0,32 | 1,08 | 0,41 | - | - | - |

Tabelle 2a



Aktivität der freien Nukleotide in Prozent der Kontrollen 30 Min. und 6 1/2 Stunden nach 800 r.

| Nukleotid | ø | nach 30 Min. | nach 6 1/2 Std. |
|---|---|---|---|
| AMP | 100 | 24 | 13 |
| ADP | 100 | 100 | 100 |
| ATP | 100 | 100 | 23 |
| CMP | 100 | 100 | 150 |
| CTP | 100 | 100 | 33 |
| GMP | 100 | 100 | 100 |
| GTP | 100 | 100 | 30 |
| UMP | 100 | 100 | 100 |
| UDP | 100 | 100 | 44 |
| UDP-$x_1$ | 100 | 100 | 100 |
| UDP-$x_2$ | 100 | 100 | 100 |
| UTP | 100 | 230 | 70 |
| TMP | 100 | 270 | 100 |
| TDP | 100 | 100 | 100 |
| TTP | 100 | 58 | 30 |
| DPN | 100 | 100 | 100 |

1. Ahlström, v. Euler, Hevesy, Zerahm: Arkiv kemi 23 A, 1946, 11
2. Ashwell, G. and J. Hickmann: Proc. Soc. Biol. 80, 1952, 407
3. Bekkum, D. W.: Ciba Symp. Ionizing Radiation and Cell metabolism, London 1956, 72
4. Bendich, A.: Exp. Cell Research Suppl. 2, 1952, 407
5. Bishop, C. W. and Davidson, J. N.: Brit. J. Rad. 30, 1957, 367
6. Carlson: Radiation Biology 1954, 763
7. Cohn, W. E.: J. Am. Chem. Soc. 72, 1950, 1471
8. Cooper, H., Herken, H. and Koransky, W.: Naunyns Schmiedeberg Archiv 234, 1958, 455
9. Dale: Biochem. J. 34, 1940, 1367
10. Darlington: Symp. Soc. Exp. Biol. 1, 1947, 252
11. Denson, J. R., Gray, E. J., Herbert, F. J., Few. J.T. and Jenson,J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 82, 1953, 707
12. v. Euler and Hevesy, G.: Kgl. Danske Videnskab. Biol. Medd. 17, 1942
13. " " : Ark. Kemi. mineral. o geologi 17 A, 1944, 1
14. Fiski - Subbarow: J. Biol. Chem. 66, 1925, 375
15. Fritz Niggli, H. und G. Bühler: Grundlagen und Ergebnisse der Strahlenbiologie
16. Friedkin, M. and Roberts, D.: J. Biol. Med.: 93, 1956, 52
17. Harrington, H. and Lawik, P.: Arch. Biochem. Biophys. 54, 1955,6
18. Hevesy G.: Reviews of modern Physics, Vol. 17, 1945 102
19. " : Advanc. Enzymol. 7, 1957, 111
20. " : Symp. on Radiobiology, New York 1952, 189
21. " : J. Chem. Soc. 1951, 1618
22. " and Hofer: Nature 134, 1934, 879
23. Holmes, B. E.: Brit. J. Radiol. 20, 1947, 450
24. Holmes, B. E., Mee, L. K.: Radiobiology Symp. 1954
25. " " : Brit. J. Rad. 30, 1957, 305
26. Howard, A. and Pelc, S. R.: Heridity Suppl. 6, 1952, 261
27. Hurlebert, R. S., Schmitz, H., Brumm, A. E. and v. Potter, R. A.: J. Biol. Chem. 209, 1954, 23
28. Kanazir, D. and Errera, M.: Biochem. Biophys. Acta 14, 1954, 62

29. Kelly and Hardin Jones: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74, 1950, 493
30. Kornberg, A., Lehmann, I. R., Besemann, M. J., Simms, E. S.: Biochem. Biophys. acta 21, 1956, 197
31. Lajtha, L. G., Oliver, R. and Ellis, F.: Adv. Radiobiol. 1957, 54
32. Lutwak - Mann, C.: Biochem. J. 49, 1951, 360
33. Mandel, P., Gros, C. H. and Rodesch, J.: Rad. Symp. 1955, 210
34. " " " and P. Chambon: Adv. Rad. 1957, 59
35. Mitchell, J. S.: Brit. J. Exp. Path. 23, 1942, 285
36. " " " " " 16, 1943, 339
37. Payne, A. H., L. S. Kelly and C. Entemann: Proc. Soc. Exp. Biol. 81, 1952, 698
38. Passeneau, J. V. and Trottler, J. R.: Rad. Res. Soc. 1954, 17
39. Perthes: Deutsche Wochenschrift 30 1904, 668
40. Potter, v. R. A.: Fed. Proc. 1955, XIV, 263
41. " and Schlesinger, S.: J. Amer. Chem. Soc. 1955, LXXVII, 6714
42. " " Büttner-Janusch, U. and Thompson, L.: J. Biol. Chem. 226, 1957, 381
43. Reichard, P. and Estborn, B.: J. Biol. Med. 188, 1951, 839
44. Sherman, F. G. and Almeida, A. D.: Ciba Symp. Ionizing Rad. and Cell metabolism, London, 1956, 77
45. Schneider: J. Biol. Chem.: CCXII, 1955, 287
46. Schneider and Brownell: Fed. Proc. 1956 XV, 349
47. Sparrow, A. H. and F. M. Rosenfeld: Science 104, 1946, 245
48. Stocken, L. A.: Rad. Res. Suppl. 1, 1959, 53
49. Stumpf, P.: J. Biol. Chem. 169, 1947, 367
50. Taylor, B., Greenstein, J. P. and A. Hollaender: Arch. Biochem. 16, 1948, 19
51. Uyeki, E. M.: Fed. Proc. 13, 1955, 1066
52. Way, I. L., Mandel, G. and Smith, P. K.: Cancer Res. 14, 1954, 812

## Lebenslauf.

Am 8. März 1926 wurde ich, Dora Ilse Unruh, als Tochter des Lehrers Hans Unruh und seiner Ehefrau Marta, geb. Barkewitz in Kleinsommershöfen, Kr. Elchniederung geboren. Nach Ablauf meiner Grundschulzeit in Laschnicken, Kr. Insterburg besuchte ich in Tilsit die Königin Luise- Schule, Oberschule für Mädchen (sprachl. Form), wo ich im Februar 1944 die Reifeprüfung ablegte. Vom Frühjahr 1944 bis Januar 1945 leistete ich meinen Arbeits- und Kriegshilfsdienst ab. Bis Frühjahr 1947 war ich im DRK Pasewalk, Lübeck und Neuenkirchen/Farge tätig. Nach zweisemestrigem Besuch der Bremer Hochschulkurse wurde ich im Wintersemester 1948 in Münster immatrikuliert und legte dort 1951 das Physikum ab. Die klinischen Semester hörte ich in Münster, Freiburg und München und bestand dort im Herbst 1955 das Staatsexamen.

Nach Absolvierung meiner Pflichtassistentenzeit an dem Tuberkulosekrankenhaus Hannover/ Stöcken, Path. Institut Hamburg/ Barmbek und LVA.- Krankenhaus Mölln war ich ein Jahr als Assistenzärztin auf der gyn.- geburtshilflichen Abteilung im Städt. Krankenhaus Elmshorn und ein Jahr in dem Unfallkrankenhaus Lauenburg tätig.

Druck: Photo-Copie GmbH Hamburg 1